

# REVISTA TECNICA

DE LA FACULTAD DE INGENIERIA  
UNIVERSIDAD DEL ZULIA

MARACAIBO - VENEZUELA



Una Revista Internacional Arbitrada  
que está indizada en las publicaciones  
de referencia y comentarios:

- Science Citation Index (SCIExpanded)
- Compendex
- Chemical Abstracts
- Metal Abstracts
- World Aluminium Abstracts
- Mathematical Reviews
- Petroleum Abstracts
- Current Mathematical Publications
- MathSci (online database)
- Revenct
- Materials Information
- Periódica
- Actualidad Iberoamericana

## Phenolic Compounds and antioxidant activity in extracts of four Oregano species

**Rivas Pérez Bernarda Nohemy, Iván Antonio Leal Granadillo, Luris Francis Loaiza Cuauro, Yonatta Ernesto Morillo, Jean Carlos Colina Chirinos**

Variante Sur, Edificio Los Perozo sector los Perozo, segundo piso modulo A, Laboratorio de estudios ambientales del centro de investigación en ciencias básicas (C.I.C.Ba) de la Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. 4101. Fax: 02682530038. E-mail: bnrp1@hotmail.com;ialealg@gmail.com;luris1979@hotmail.com; yonattamorillo@hotmail.com; jean\_the\_wilfor@hotmail.com

### Abstract

The objective of the research was to determine the content of phenolic compounds and antioxidant activity in each extract of oregano. The extracts were obtained using two methods (passive maceration and Soxhlet extraction), with three mixtures of solvents of different polarities methanol-water at 75-25% ethanol-water at 75-25% and hexane-methanol 50-50%. The passive maceration method using methanol-water at 75-25% presented the highest percentage of yield of 24-31.45 and the best results in the physico-chemical analysis and microbiological analysis according to the technical norm COVENIN 1539-83. Oregano extract showed higher concentrations of total polyphenols were *Lippia origanoide* (Verbenaceae) species followed by the *Origanum vulgare* (Lamiaceae) species whit 475 and 113 mgAG / g dried oregano, respectively and the smaller was species *Plectranthus amboinicus* (Lour) 17.1 mgAG / g. The highest antioxidant activity was to *L. origanoide* (2.26 eqmmoles TROLOX / mg) followed the *O. vulgare* (1.96 eqmmoles TROLOX / mg) for the ABTS method and (1.88 and 1.2) eqmmoles TROLOX / mg extract for the method DPPH. The less antioxidant activity obtained was species *Plectranthus* for both methods, so that obtained was a direct relation between phenolics and antioxidant activity with an  $R^2$  of 0.98

**Key words:** oregano extracts; antioxidant activity; phenolic compounds.

## Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en extractos de cuatro especies de orégano

### Resumen

El objetivo de la investigación fue determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en cada extracto de orégano. Los extractos se obtuvieron utilizando dos métodos (maceración pasiva y extracción Soxhlet), con tres mezclas de solventes de diferentes polaridades metanol-agua al 75-25%, etanol-agua al 75-25% y hexano-metanol 50-50%. El método maceración pasiva utilizando metanol-agua al 75-25% presentó el mayor porcentaje de rendimiento de 24-31,45 y los mejores resultados en cuanto a los análisis fisicoquímicos y análisis microbiológicos según la norma técnica COVENIN 1539-83. El extracto de orégano que presentó mayor concentración de polifenoles totales fue la especie *Lippia origanoide* (Verbenaceae) seguido de la especie *Origanum vulgare* (Lamiaceae) con 475 y 113 mgAG / g de orégano seco, respectivamente y la menor fue la de la especie *Plectranthus amboinicus* (Lour) de 17,1 mgAG / g. La mayor actividad antioxidante fue la de *L. origanoide* (2,26 eqmmoles TROLOX / mg) seguido el *O. vulgare* (1,96 eqmmoles TROLOX / mg) para el método ABTS y (1,88 y 1,2) eqmmoles TROLOX / mg de extracto, para el método DPPH. Se obtuvo una menor actividad antioxidante en las especies *Plectranthus* para los dos métodos, por lo que se obtuvo una relación directa entre los compuestos fenólicos y actividad antioxidante con un  $R^2$  de 0,98.

**Palabras clave:** extractos de orégano; actividad antioxidante; compuestos fenólicos.

## Introducción

Las plantas y vegetales poseen distintos compuestos bioactivos, entre los que destacan los antioxidantes, compuestos de distinta naturaleza química, que incluyen a las vitaminas C y E, polifenoles, carotenoides y terpenos, entre otros. Estos compuestos se han relacionado con la prevención de distintos procesos crónicos, como la enfermedad cardiovascular, algunos desórdenes neurológicos y ciertos procesos inflamatorios [1].

Los extractos crudos de frutas, hierbas, verduras, cereales y otros materiales vegetales ricos en fenoles están generando interés en la industria de los alimentos debido a que retardan la degradación oxidativa de los lípidos, y por lo tanto mejoran la calidad y el valor nutricional de los alimentos. La extracción de los diferentes fenoles se realiza a partir del material fresco o incluso seco, siempre y cuando no se altere su composición. Se utilizan inicialmente solventes no polares o ligeramente polares para separar las clorofilas, gomas y agliconas de flavonoides altamente metoxilados. Los fenoles que poseen un gran número de grupos hidroxilos no sustituidos azúcares, son considerados polares, por lo que son ligeramente solubles en disolventes polares, como el metanol, etanol, acetona y agua [2].

Una de las plantas ampliamente utilizada por su gran poder antioxidante es el orégano, la hoja del orégano se usa no solo como condimento sino también en la elaboración de cosméticos, fármacos y licores; motivo que lo ha convertido en un producto de exportación. En el estado Falcón crecen de manera natural cuatro variedades de orégano, *Lippia origanoides* (Verbenaceae), *Origanum vulgare* (Lamiaceae), *Plectranthus amboinicus* (Lour) y *Plectranthus amboinicus* (Variegatus), es por esta razón que se pretende con esta investigación determinar los compuestos fenólicos y actividad antioxidante en cada extracto de orégano utilizando diferentes mezclas de solventes y métodos de extracción que permita garantizar la mayor extracción de los compuestos.

## Parte experimental

### Caracterización fisicoquímica de las plantas de orégano

#### Obtención del material vegetal

La parte aérea de las plantas de orégano se recolectaron manualmente antes de las ocho de la mañana en la zona sur, este y occidente de Santa Ana de Coro, Estado Falcón. En la zona sur específicamente en el sector La Negrita, Municipio Miranda ubicada en las coordenadas geográficas 11°19' 12,1" a 242 m de altura: en la zona este sector El Carrizal, La Vela, Municipio Colina coordenadas

geográficas 69°29' 10" a 10 m de altura y en la zona occidente sector Caravali, Pedregal, Municipio Democracia en las coordenadas geográficas 11°9' 1" a 211 m de altura. La recolección se realizó en época seca.

#### Preparación de las plantas

Las hojas se separaron de los materiales extraños, se secaron a la sombra a temperatura ambiente por espacio de ocho días, se pesaron y luego se colocaron en envases ámbar libre de humedad hasta su procesamiento a temperatura ambiente. De cada punto se tomaron de 40 a 60 plantas obteniéndose de 2 a 2,5 kg de hoja de orégano seco.

#### Determinación de proteínas, grasas, fibra, cenizas, carbohidratos totales y humedad a las plantas

Las mediciones se realizaron por triplicado. La proteína se determinó bajo las condiciones descritas por la norma [3]. Para la determinación de grasa se utilizó la extracción Soxhlet usando hexano como solvente de extracción por 6 horas, se eliminó el solvente en un rotaevaporador Buchi R-200 a una temperatura de 60°C. Se secó en una estufa marca Memmert a 103 ± 2°C por 30 min. Para fibra se utilizó la norma [4]. La ceniza presente en el orégano se determinó mediante el método establecido por la norma [5]. La determinación de carbohidratos fue a través del método de Dubois (fenol/sulfúrico) [6], utilizando glucosa como patrón, con un intervalo lineal de 10-80 mg/L y por último la humedad fue determinada por el método de pesos constantes [7].

#### Determinación de las propiedades fisicoquímicas, bacteriológicas y rendimiento en cada extracto

#### Obtención de los extractos de las especies de orégano

Los métodos utilizados para obtener los diferentes extractos fueron, maceración pasiva y extracción Soxhlet, la relación sólido líquido fue de 1/10, la mezcla de solventes de extracción utilizados fueron metanol-agua 75-25%, etanol-agua 75-25%, hexano-metanol 50-50%. La extracción se realizó por un período de 4 horas manteniendo un intervalo de temperatura de 60-70°C para el método Soxhlet; la maceración pasiva se realizó a temperatura ambiente por 4 horas. Todos los extractos se dividieron en dos partes iguales una parte se concentró por remoción al vacío del solvente en un rotaevaporador marca Buchi R-200 a 40-60°C dependiendo de la naturaleza del solvente y la otra parte se dejó sin rotaevaporar. Se almacenaron en envases ámbar bajo condiciones de refrigeración.

## **Caracterización fisicoquímica, bacteriológica y determinación de rendimiento de cada extracto**

A cada extracto concentrado por remoción al vacío se les determinó los parámetros fisicoquímicos tales como (humedad e índice de refracción) y bacteriológicos según lo establecido por la norma [8], tales como mohos, levaduras, coliformes fecales, coliformes totales y el rendimiento de cada extracto siguiendo la norma [7], esto con el objeto de establecer el método de extracción adecuado considerando calidad y factibilidad del producto final. La determinación de humedad fue por el método de peso constante y el índice de refracción a través de un refractómetro. Las propiedades bacteriológicas fueron determinadas según la norma [9], para hongos y levaduras en muestras de extracto de orégano, los coliformes fecales y totales del extracto se evaluaron a través de la norma [10]. La determinación de rendimiento se realizó utilizando el peso inicial de orégano empleado con el peso final de la oleoresina obtenida. Con esta diferencia de pesos se obtuvo el porcentaje de rendimiento.

### **Determinación de polifenoles totales**

A los extractos (rotaevaporados y sin rotaevaporar) se les determinó la concentración de polifenoles totales con el objeto de determinar la influencia de la temperatura en la rotaevaporación.

Se estableció el método de Follin-CioCalteu para medir los polifenoles totales de acuerdo a la metodología descrita por [11], con algunas modificaciones. Se realizó un barrido en el espectrofotómetro 6715 UV/ VIS de la JENWAY con ácido gálico a 60 mg/L de 300-900 nm, obteniéndose la absorbancia máxima en la longitud de onda 760 nm, se estableció también el intervalo lineal del método de 20-100 mg/L de ácido gálico. A 200  $\mu$ L de muestra se le adicionaron 1500  $\mu$ L de agua destilada, 100  $\mu$ L de reactivo Follin y 200  $\mu$ L de carbonato de sodio al 7,5 %. La mezcla se sónico por 5 min a 50 °C en un Ultrasonido Elmasonic S 120H. Se incubó en la oscuridad por 2 horas y se realizó la lectura a 760 nm. La concentración de polifenoles se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de orégano seco.

### **Determinación de la actividad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH**

#### **Actividad antioxidante por el método DPPH**

La determinación de la actividad antioxidante de los extractos, fue estimada a través de su capacidad para desactivar radicales libres, se llevó a cabo siguiendo el método descrito por [12] solo a los extractos que presentaron mayor concentración de polifenoles totales. Se preparó una solución de DPPH 20 mg/L en etanol absoluto: agua, 1:2. Una alícuota de 980  $\mu$ L de esta solución se incubó a temperatura ambiente

durante 2 horas y se midió la absorbancia inicial a 517 nm después de haber realizado un barrido de 200-800 nm con el reactivo DPPH, se estableció el intervalo lineal del método de 0,032-2 mM de TROLOX. Para la medición se mezclaron 20  $\mu$ L de los extractos con 980  $\mu$ L de la disolución (DPPH). La cuantificación de la actividad secuestrante de DPPH se llevó a cabo por sustracción de los valores de absorbancia a 517 nm inicial del reactivo DPPH y de las muestras, considerando el descenso de absorbancia debido a la reducción del radical DPPH. Los resultados finales se expresarán como equivalentes mM TROLOX por mg de extracto de orégano.

### **Análisis estadístico**

Para demostrar que las especies de orégano presentan propiedades fisicoquímicas diferentes se llevó a cabo un análisis de ANOVA de un factor siendo este factor las especies estudiadas. Luego de conocer que las especies de oréganos utilizadas para obtener los extractos provocan un efecto sobre las propiedades fisicoquímicas se analizaron mediante Prueba LSD Fisher con Valores de  $P < 0,05$ , utilizando el paquete estadístico INFostat. Lo mismo se realizó para obtener los resultados de rendimientos utilizando un factor de Método de extracción para cada especie.

### **Actividad antioxidante por el método ABTS**

Se determinó según la metodología desarrollada por [13]. La actividad antioxidante se obtuvo tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2,45 mM concentración final), después de incubar a temperatura ambiente, en la oscuridad durante 16 horas. Una vez formado el radical ABTS se diluyó con buffer PBS hasta obtener una absorbancia de  $0,7 \pm 0,1$  a 735 nm (longitud de onda máxima absorción). Se añadieron 20  $\mu$ L de muestra a 980  $\mu$ L de dilución del radical ABTS. Se homogenizó y se dejó reaccionar durante 30 min en la oscuridad luego se midió en un espectrofotómetro a 734 nm después de haber realizado un barrido de 200-900 nm con el reactivo ABTS, se estableció el rango lineal del método de 0,016-2 mM de TROLOX. Los resultados se expresaron en mg equivalente de TROLOX en mg de extracto de orégano seco.

## **Resultados y discusión**

### **Caracterización fisicoquímica de las especies de orégano**

El propósito principal de un análisis proximal es determinar en un alimento, el contenido de humedad, grasa, proteína, fibra cruda, carbohidratos y cenizas. Estos procedimientos químicos revelan también el valor nutritivo de un producto y cómo puede ser combinado de la mejor forma con otras materias primas para alcanzar el nivel deseado de los distintos componentes de una dieta. En la Tabla 1 se reportan los valores obtenidos.

**Tabla 1.**  
Caracterización fisicoquímica (% en base seca) de las especies de orégano provenientes del Estado Falcón

Análisis	<i>L. origanoide</i> (Verbenaceae)	<i>P. amboinicus</i> (Lour)	<i>P. amboinicus</i> (Variegatus)	<i>O. vulgare</i> (Lamiaceae)
Carbohidratos	60,3 <sup>c</sup> ±2,2	56,5 <sup>ab</sup> ±1,9	55,6 <sup>c</sup> ±0,80	59,0 <sup>bc</sup> ±1,3
Proteínas	8,69 <sup>ab</sup> ±0,35	10,1 <sup>b</sup> ±0,40	9,56 <sup>ab</sup> ±0,20	9,09 <sup>a</sup> ±0,40
Humedad	10,4 <sup>b</sup> ±0,36	13,0 <sup>c</sup> ±0,030	14,0 <sup>d</sup> ±0,22	9,50 <sup>a</sup> ±0,060
Cenizas	6,48 <sup>a</sup> ±0,28	10,3 <sup>c</sup> ±0,70	9,23 <sup>b</sup> ±0,52	8,90 <sup>b</sup> ±0,60
Grasas	2,08 <sup>a</sup> ±1,2	4,07 <sup>b</sup> ±0,90	3,70 <sup>b</sup> ±0,50	3,10 <sup>ab</sup> ±0,57
Fibra Cruda	6,29 <sup>a</sup> ±0,080	9,02 <sup>d</sup> ±0,010	7,09 <sup>b</sup> ±0,10	8,01 <sup>c</sup> ±0,080

Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado ± DE (desviaciones estándar). El análisis de varianza (ANOVA) indica que existe una diferencia significativa entre los pares de media de las especies con respecto a las características fisicoquímicas: humedad, cenizas, carbohidratos, proteínas y fibra ya que sus p fueron 0,000. Sin embargo para el parámetro grasa no hubo diferencia significativa ya que su P fue 0,1431, siendo mayor que el nivel de significancia del ANOVA ( $\alpha=0,05$ ). Medias con una letra común no son significativamente diferentes con  $p<0,05$  después de aplicar la prueba de comparaciones LSD Fisher.

La proteína total es aprovechada en la obtención de harinas complementarias para la nutrición humana y animal. Esto depende de la composición en aminoácidos y digestibilidad de la proteína, puesto que algunos de ellos no pueden ser sintetizados y se requiere de su suministro [14]. Los valores de proteína encontrados son iguales para las especies *P. amboinicus* (Lour) y *L. origanoide* a un nivel de confianza del 95%.

Todas las plantas, contienen agua en mayor o menor proporción. Las cifras de contenido en agua varían entre los alimentos naturales. Al observar el porcentaje de humedad presente en las especies de orégano indica que se encuentra por debajo del intervalo de humedad en el que oscilan la mayoría de los alimentos naturales. Esta variable es de vital importancia para establecer las condiciones de almacenamiento de los componentes de las plantas con miras a desarrollar procesos de transformación agroindustrial y alargar su vida útil [15]. Todo alimento que posea en sus moléculas una humedad mayor a 12,5% y no esté debidamente preservada, es susceptible al crecimiento bacteriano y micótico, produciendo la descomposición parcial o total del producto [15]. Por lo que las plantas secas de las especies *P. amboinicus* (Lour) y *P. amboinicus* (Variegatus), son susceptibles al crecimiento microbiano y deben tener menor tiempo de almacenamiento, tener condiciones especiales de almacenamiento o deben secarse por mayor tiempo. Los carbohidratos se encuentran distribuidos prácticamente en la misma proporción en todas

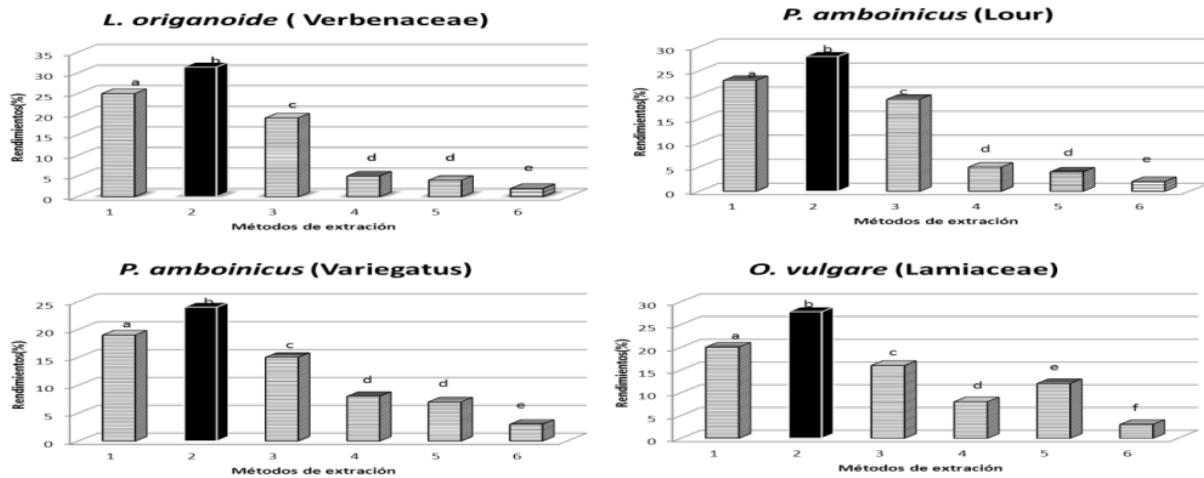
las especies siendo un poco superior los que presentan *L. origanoide* y *O. vulgare*, son fracciones con un aporte calórico significativo representado principalmente por azúcar, almidón, dextrina, celulosa y glucógeno, sustancias que constituyen una parte importante de la dieta de los humanos y animales [16]. Teniendo en cuenta la composición y valor calórico de las especies de orégano pueden constituirse en principio como una buena opción para la formulación de raciones para la alimentación animal sin descartar la posibilidad de su empleo en la alimentación humana.

### Determinación del rendimiento en cada uno de los extractos de orégano

A cada extracto rotaevaporado obtenido por cada método de extracción se le determinó el rendimiento en base a la diferencia de peso del extracto seco, con el fin de garantizar la factibilidad del proyecto. En la Figura 1 se tienen los rendimientos obtenidos para tres repeticiones. Como se observa en la Figura 1 el mejor rendimiento con una diferencia significativa después de aplicar la prueba de comparaciones LSD Fisher con  $P<0,05$  se obtuvo con el método de extracción maceración pasiva utilizando 75% de metanol y 25% de agua en todas las especies, cabe señalar que la maceración pasiva con 75% de etanol y 25% de agua es la que reporta una segunda opción en cuanto al rendimiento obtenido para cada especie, considerando que el metanol para un extracto

que pudiera ser utilizado en alimento es cuestionable por ser un solvente tóxico se sugiere realizar la extracción con etanol variando su proporción con el agua, porque a pesar de que se realiza una eliminación de solventes por medio del rotaevaporador siempre quedan trazas del solvente.

La diferencia de valores de rendimientos obtenidos en cada uno de los extractos es debido a las diferentes polaridades de las mezclas de solventes utilizadas ya que las muestras probablemente contengan compuestos afines a las polaridades donde se obtuvo el mayor rendimiento.



**Figura 1.** Rendimientos de cada método de extracción para cada especie

1.-Maceración pasiva en 75 % de etanol y 25% de agua; 2.- Maceración pasiva en 75% de metanol y 25% de agua; 3.-Maceración pasiva con 50% de metanol y 50% de hexano; 4.- Soxhlet con 75 % de etanol y 25% de agua; 5.- Soxhlet con 75% de metanol y 25% de agua; y 6.-Soxhlet con 50% de metanol y 50% de hexano. Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado. Medias con una letra común no son significativamente diferentes con  $p < 0,05$  después de aplicar la prueba de comparaciones LSD Fisher.

## Determinación de los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos en cada uno de los extractos de orégano

La Tabla 2 reporta los valores fisicoquímicos de cada extracto estudiado en esta investigación para las diferentes especies.

**Tabla 2**

Parámetros fisicoquímicos de los extractos obtenidos de las especies con los diferentes métodos de extracción.

	<i>L. origanoide</i> (Verbenaceae)	<i>P. amboinicus</i> (Variegatus)	<i>P. amboinicus</i> (Lour)	<i>O. vulgare</i> (Lamilaceae)
Método de extracción	Humedad (%)	Índice de refracción	Humedad (%)	Índice de refracción
1	17,6±0,12	1,45±0,10	16,3±0,22	1,38±0,19
2	16,2±0,020	1,49±0,10	14,3±0,30	1,46±0,21
3	12,2±0,30	1,35±0,12	16,1±0,18	1,33±0,34
4	16,5±0,17	1,36±0,20	18,3±0,13	1,34±0,21
5	12,7±0,40	1,34±0,40	12,1±0,25	1,33±0,10
6	10,1±0,10	1,34±0,17	13,8±0,21	1,33±0,10

1: Maceración con 75 % de etanol rotaevaporada; 2: Maceración con 75% de metanol rotaevaporada; 3: Maceración con mezcla de 50% hexano y metanol 50% rotaevaporada; 4: Soxhlet con 75 % de etanol rotaevaporado; 5: Soxhlet con 75% de metanol rotaevaporada; 6: Soxhlet con mezcla de 50% hexano y metanol 50% rotaevaporada. Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado ± DE (desviaciones estándar)

El porcentaje de humedad en las oleorresinas de cada especie de orégano se encontró entre 9,72 y 18,3%.

El parámetro que establece la calidad de la oleorresina del orégano, es el índice de refracción ya que de este depende la concentración de la oleorresina. Según el código alimentario argentino [17], este se encuentra por debajo de su intervalo permisible a 20°C de 1,5020 a 1,5080, por lo que se sugiere secar más la materia prima. El análisis microbiológico por medio del recuento de coliformes totales, mohos; levaduras y coliformes fecales, mostró resultados negativos, cumpliendo con los parámetros exigidos por las normas para materias primas que son utilizadas como fuente de productos para la industria alimentaria [18].

### **Determinación de los polifenoles totales en cada extracto de orégano obtenido para cada especie**

El extracto obtenido fue dividido en dos partes iguales, una de ellas fue rotaevaporada en un rotaevaporador marca BUCHI Coler Parmer. Con el objeto de verificar la influencia de la temperatura en la rotaevaporación sobre la concentración de polifenoles totales; se midió la cantidad de polifenoles a los extractos rotaevaporado y sin rotaevaporar a través del método de Follin-Ciocalteu de acuerdo a la metodología descrita por [12].

En la Tabla 3 se presentan los resultados de polifenoles totales para cada extracto rotaevaporado y sin

rotaevaporar expresado en mg de ácido gálico por cada gramo de orégano seco.

Las concentraciones de polifenoles totales resultó ser distinta según el tipo de solvente siendo la especie *L. origanoide* la que presentó mayor concentración de polifenoles totales, con el método de extracción maceración utilizando metanol al 75%, teniendo la misma tendencia las demás especies en cuanto a las concentraciones obtenidas, las mayores concentraciones para todas las especies fueron las obtenidas con el método de extracción maceración 75% de metanol 25% de agua, por lo que con estos valores se completa la información y se certifica que el mejor método de extracción manteniendo las condiciones de rendimientos y propiedades fisicoquímica además de su capacidad antioxidante es la maceración con metanol. Tomando en cuenta que las mejores condiciones se obtienen utilizando metanol- agua y que el metanol es considerado toxico para el ser humano se sugiere realizar pruebas futuras con la mezcla de etanol- agua variando sus proporciones. Los reportes de las concentraciones de polifenoles en plantas de orégano para otros estudios son muy variables comprobando la influencia que tienen las condiciones ambientales sobre sus metabolitos secundarios, además de las condiciones de extracción que no fueron las mismas. En la Tabla 3 se puede observar la variedad de resultados que se obtiene a partir de diferentes especies de orégano y condiciones de extracción, por lo que se explica que las concentraciones de polifenoles totales reportadas para otras estudios sean diferentes a las obtenidas en este estudio [19, 20] de 200 y 40 ácido gálico / g de orégano respectivamente.

**Tabla 3**  
Polifenoles totales (mg AG / g de extracto seco) para cada extracción ensayada

Método	<i>L. origanoides</i> (Verbenaceae)	<i>P. amboinicus</i> (Lour)	<i>P. amboinicus</i> (Variegatus)	<i>O. vulgare</i> (Lamiaceae)
1	18,9±0,15	0,245±0,030	0,124±0,023	3,76±0,10
2	28,5±0,12	6,11±0,15	6,19±0,18	5,64±0,10
3	47,5±0,30	9,78±0,20	4,95±0,14	15,9±0,12
4	<b>475±0,10</b>	<b>17,1±0,20</b>	<b>18,6±0,13</b>	<b>113±0,16</b>
5	56,9±0,21	6,11±0,30	2,68±0,20	1,88±0,14
6	66,5±0,18	7,34±0,15	3,71±0,13	2,82±0,16
7	18,9±0,10	4,89±0,090	2,48±0,010	1,88±0,040
8	18,9±0,30	7,34±0,10	4,95±0,21	3,76±0,12
9	18,9±0,12	1,22±0,21	1,24±0,0150	0,940±0,015
10	37,9±0,11	2,45±0,10	3,71±0,13	2,82±0,16
11	9,50±0,14	0,122±0,018	2,48±0,17	1,88±0,020
12	18,9±0,010	0,245±0,030	3,71±0,20	2,82±0,030

1: Maceración 75% Etanol sin rotaevaporar; 2: Maceración en 75 % de etanol rotaevaporado; 3: Maceración en 75% de metanol sin rotaevaporar; 4: Maceración en 75% de metanol rotaevaporado; 5: Maceración 50% hexano y metanol 50% sin rotaevaporar; 6: Maceración 50% hexano y metanol 50% rotaevaporado; 7: Soxhlet 75% Etanol sin rotaevaporar; 8: Soxhlet en 75 % de etanol rotaevaporado; 9: Soxhlet en 75% de metanol sin rotaevaporar; 10: Soxhlet en 75% de metanol rotaevaporado; 11: Soxhlet 50% hexano y metanol 50% sin rotaevaporar; 12: Soxhlet 50% hexano y metanol 50% rotaevaporado; Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado ± DE (desviaciones estándar)

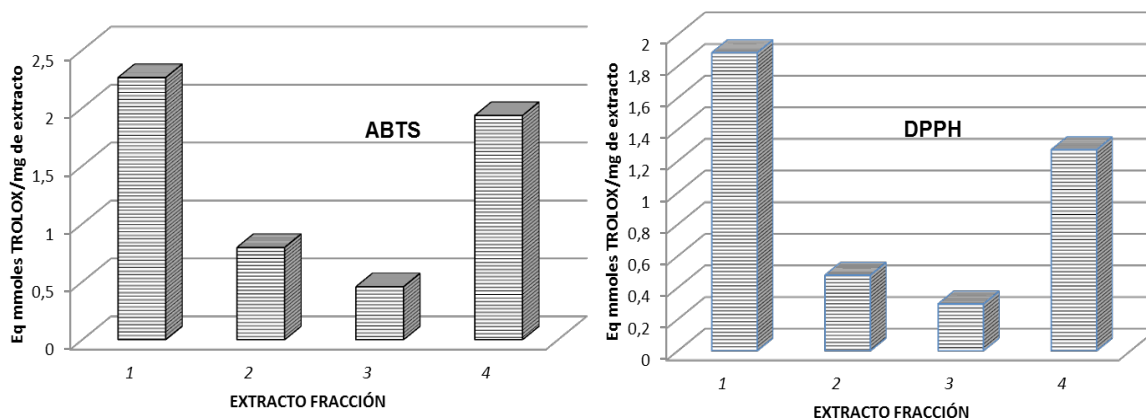
No solo las condiciones ambientales influyen para obtener la mayor concentración de polifenoles sino que también influye la constante dieléctrica de los solventes y el método de extracción, a mayor constante dieléctrica mayor será la concentración de polifenoles, en este caso la constante dieléctrica del metanol es de 32,6 y la del etanol 24,3.

### Determinación de la actividad antioxidante del orégano

En esta parte de la investigación se determinó la actividad antioxidante a los extractos que presentaron

mayor cantidad de polifenoles totales que fueron los extractos que se obtuvieron a través de la maceración pasiva por 4 horas y 75% de metanol. Los métodos más ampliamente utilizados por su simplicidad y reproducibilidad son el DPPH (depleción del óxido 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) y el ABTS (depleción del 2, 2'-Azinobis-3-etil- benzotiazolona-6-ácido sulfónico) [20]. Es por esta razón que en esta investigación se realizó la medición de la capacidad antioxidante con estos métodos. En la Figura 2 se puede observar la actividad antioxidante presente de las cuatro especies de orégano en estudio, con los métodos DPPH y ABTS.





1: Especie *L. origanoides* (Verbenaceae); 2: Especie *P. amboinicus* (Lour); 3: Especie *P. amboinicus* (Variegatus); 4: Especie *O. vulgare* (Lamilaceae)  
**Figura 2.** Actividad antioxidante medida por los métodos DPPH y ABTS del extracto obtenido por las diferentes especies de orégano

Los valores de la capacidad antioxidante por el método DPPH fueron ligeramente menores en comparación a los valores reportados por el método ABTS, la diferencia sugiere que los compuestos hidrofílicos están en mayor proporción que los lipofílicos, los cuales son más sensibles a la técnica ABTS, ya que con la técnica DPPH se mide preferentemente la capacidad antioxidante de compuestos pocos polares (lipofílicos). La técnica ABTS tiene la capacidad de medir los compuestos hidrofílicos y lipofílicos mientras que la técnica DPPH tiene preferencia por los compuestos lipofílicos [21], esto explica la ligera diferencia en los valores reportados.

## Conclusión

1. Los resultados obtenidos indican que los extractos del orégano *L. origanoide* (Verbenaceae) y *O. vulgare* (Lamilaceae) silvestre del Estado Falcón Venezuela, presentan una capacidad de estabilización de radicales libres, lo que sumado al alto rendimiento de extracción (31,45 y 27%) convierte a estas plantas en especies promisorias para la obtención de antioxidantes naturales. Las especies *P. amboinicus* (Variegatus y Lour) presentaron una capacidad antioxidante inferior a la de las otras especies estudiadas por lo que pueden ser aprovechadas para otro fin.

2. El mejor método de extracción fue la maceración pasiva por cuatro horas utilizando metanol 75% y 25% de agua, ya que con este método se obtuvieron las mejores condiciones fisicoquímicas, antioxidantes y bacteriológicas, por lo que se sugiere realizar pruebas de extracción utilizando la mezcla etanol-agua variando la proporción ya que el metanol es un solvente toxico.

## Referencias bibliográficas

- [1] Stanner S., Hughes J. y Buttriss J.: "A review of the epidemiological evidence for the antioxidant hypothesis". Public Health nutrition, Vol. 7, N°. 3 (2004) 407-22.
- [2] Pérez N., Lugo C., Gutiérrez L. y Del Toro S.: "Extracción de compuestos fenólicos de la cascara de lima (*Citrus limetta* Risso) y determinación de su actividad antioxidante". Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, Vol. XV, N°. 3 (2013) 18-22.
- [3] Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1980). Determinación de nitrógeno método Kjeldahl. Norma 1195.
- [4] Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1995). Determinación de fibra. Norma 3178.
- [5] Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1981). Productos de cereales y leguminosas. Norma 1783.
- [6] Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P. y Smith F.: "Colorimetric method for determination of sugars and related substances". Analytical Chemistry, Vol.28, N°.3 (1956) 350-356.
- [7] Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1990). Especies y condimentos métodos de ensayo. Norma 1562.
- [8] Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1983). Especies y condimentos métodos de ensayo. Norma 1539.

- [9] Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1990). Reencuentros de mohos y levaduras. Norma 1337.
- [10] Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN (1996). Determinación del número más probable de coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Norma 1104.
- [11] Magalhaes L., Santos F., Segundo M., Reis S. y Lima J.: "Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Follin-Ciocalteu reducing capacity". *Talanta*, Vol. 83, N°. 1 (2010) 441-447.
- [12] Paladino S.: "Extractos de semillas de vid (*Vitis vinífera*) con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de extracción". *Rev FCA UNCUYO*, Vol. 43, N°. 1 (2011) 187-199.
- [13] Kuskoski E., Asuro A., Troncoso A., Fett R y Mancini-Filho J.: "Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos". Sevilla, 2005.
- [14] Jordán A. y Hoyos O.: "Características fisicoquímicas de dos variedades del fruto del zapote comercializadas en el departamento del Cauca". *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, Vol. 5, N°. 2 (2007) 32-38.
- [15] Contreras N. y Santos O. Determinación del análisis bromatológico proximal fotoquímico preliminar de los extractos acuosos y etanólicos de inflorescencia de *Calathea allouia* Lindl, frutos de *Bromelia karatas* y flor de *Cucurbita pepo* L. Tesis de grado. Universidad del Salvador Centro América (2012).
- [16] Marcano B.: "La química en los alimentos". Editorial academia de ciencias físicas, matemática y naturales, Caracas 2011.
- [17] Código alimentario argentino capítulo XVI (1993). Correctivos y coadyuvantes, sustancias aromatizantes, especias o condimentos vegetales. Norma 1298-1300.
- [18] Ochoa C., Luna J. y Pérez G.: "Efecto de la aplicación de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia g*) y tomillo (*Thymus v*) en factores de calidad de rodajas de manzana (*Malus domestica*)". *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Vol. 3, N°. 2 (2012) 247-269.
- [19] Vásquez D. El orégano de monte (*Lippia organoides*) del Alto Patía: Efecto del método de obtención de sus extractos sobre la composición y la actividad antioxidante de los mismos. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá Facultad de Ciencias (2012).
- [20] Sasikumar J., Assevatham S. y Kumar D.: "Studies on in vitro free radical scavenging activity of *Bixa orellana* L. bark extract". *Int J Oharm Sci*, Vol. 4, N°. 2 (2012) 719-726.
- [21] Floegel A., Kim D. y Chung S.: "Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods". *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 24, N°.7 (2011) 1043-1048.

Recibido el 25 de Enero de 2016  
En forma revisada el 29 de Mayo de 2017



UNIVERSIDAD  
DEL ZULIA

---

## **REVISTA TECNICA**

DE LA FACULTAD DE INGENIERIA  
UNIVERSIDAD DEL ZULIA

**Vol. 40. N°3, Diciembre 2017** \_\_\_\_\_

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en Diciembre de 2017, por el **Fondo Editorial Serbiluz**, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

[www.luz.edu.ve](http://www.luz.edu.ve)  
[www.serbi.luz.edu.ve](http://www.serbi.luz.edu.ve)  
[produccioncientifica.luz.edu.ve](http://produccioncientifica.luz.edu.ve)